

УДК 576.893.195 : 595.771

**МИКРОСПОРИДИИ РОДА PARATHELOHANIA
(MICROSPORA: AMBLYOSPORIDAE)
ИЗ КОМАРОВ РОДА ANOPHELES (DIPTERA: CULICIDAE)
ЮГА ЗАПАДНОЙ СИБИРИ**

© А. В. Симакова, Т. Ф. Панкова

Приводятся описания, рисунки и дифференциальные диагнозы 5 новых видов микроспоридий рода *Parathelohania* Hazard et Oldacre, 1975 из жирового тела личинок малярийных комаров, собранных в водоемах Западной Сибири.

В настоящее время из комаров сем. Culicidae описано 18 видов микроспоридий, относящихся к роду *Parathelohania*. В основном это паразиты комаров рода *Anopheles* Mg, у которых обнаружено 14 видов.

Микроспоридии рода *Parathelohania* характеризуются сложными триморфными циклами развития с использованием промежуточных хозяев — ракообразных. До настоящего времени полные жизненные циклы с образованием 3 различных типов спор определены только для 2 из 18 описанных видов рода *Parathelohania* (Avery, 1989; Avery, Undeen, 1990). В основном описания микроспоридий рода *Parathelohania* базируются на ультраструктурных особенностях мейоспор, развивающихся в жировом теле личинок комаров и приводящих к их гибели. Таким образом, идентификация видов микроспоридий рода *Parathelohania* производится на основании таких признаков, как форма и размеры мейоспор, выступ на заднем полюсе, складки и шипы экзоспоры, толщина и строение слоев оболочки, число витков полярной трубки, соотношение толстых и тонких витков, характер спорогонии, форма споронтов, наличие и структура секрета в эписпоральном пространстве спорофорного пузырька.

Данная статья посвящена описанию 5 новых видов микроспоридий, выделенных из личинок кровососущих комаров, собранных в водоемах Западной Сибири.

При идентификации микроспоридий использовалась система Воронина (2001).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Личинок кровососущих комаров рода *Anopheles*, зараженных микроспоридиями, собирали в постоянных материковых и пойменных водоемах естественного и искусственного происхождения г. Томска, окрестностей пос. Ко-

ларово, пос. Тегульдет Томской обл., пос. Алаево Кемеровской обл., г. Павлодар, Казахстан.

Микроспоридий изучали общепринятыми методами при помощи световой и электронной микроскопии (Воронин, Исси, 1974; Уикли, 1975).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате исследований, проведенных с 1992 по 1998 гг. на территории лесной зоны юга Западной Сибири, из кровососущих комаров рода *Anopheles* нами выделено 5 новых видов микроспоридий рода *Parathelohania*.

Parathelohania divulgata sp. n. (рис. 1, см. вкл.)

Хозяин: комары *Anopheles beklemishevi* Stegnii et Kabanova, 1976; *An. messeae* F., 1926; личинки.

Локализация: жировое тело.

Место и время обнаружения: водоемы поймы р. Чулым (пос. Тегульдет, Тегульдетского р-на Томской обл.), р. Томь (окрестности пос. Алаево, Кемеровская обл.), июль 1996 и 1997 гг.; искусственные и естественные материковые водоемы (окрестности г. Томска), июль 1997 г.; окрестности г. Павлодара, Казахстан, июль—август 1996 г.

Описание паразита. Световая микроскопия (СМ). На мазках обнаружены стадии спорогонии: одно- ($7.0-9.0 \times 7.0-9.0$ мкм), двух- ($7.5-7.8 \times 7.9-9.0$ мкм), четырех- ($8.0-8.3 \times 8.0-8.2$ мкм) и восьмиядерные споронты ($8.0-10.0 \times 7.9-10.0$ мкм).

Зрелые споры после фиксации удлинено-овальные, передний полюс усечен, имеет 2 едва заметных шипа, задний — сужен, несет 2 шипа. Размеры фиксированных спор $4.6-5.3 \times 2.4-3.2$ мкм.

Электронная микроскопия (ЭМ). Спорофорный пузырек. Стадии спорогонии и зрелые споры окружены однослойным прочным мембраноидом спорофорного пузырька, который сохраняется вокруг зрелых спор. Эписпоральное пространство заполнено большим количеством гранул секрета различной структуры. Трубочатый секрет собирается в осмиофильные гранулы округлой или неправильной формы, похожие на глыбки размером до 1.53 мкм. Частично же трубочатый секрет лежит свободно в полости спорофорного пузырька. Кроме этого, имеются шаровидные гранулы секрета диаметром до 0.42 мкм с однородным внутренним содержимым. По мере созревания спор количество секрета уменьшается, трубочки лежат свободно, шаровидные гранулы секрета сливаются и увеличиваются в диаметре до 0.69 мкм.

Стадии развития. На электронномикроскопическом уровне изучены стадии мерогонии и спорогонии. Поздние меронты представляют собой овальные клетки с крупными диплокариотическими ядрами, занимающими около 2/3 объема клетки. Каждое ядро диплокариона окружено двухмембранной оболочкой, которая несет на своей поверхности многочисленные рибосомы. Имеются поровые комплексы. В ядрах меронтов видны скопления хроматина. Цитоплазма зернистая. На отдельных участках плазматической мембраны меронта появляется дополнительная внешняя мембрана, таким образом, начинается формирование споронта. Между плазматической мембраной позднего меронта и формирующейся оболочкой спорофорного пузырька сразу же происходит образование гранул секрета.

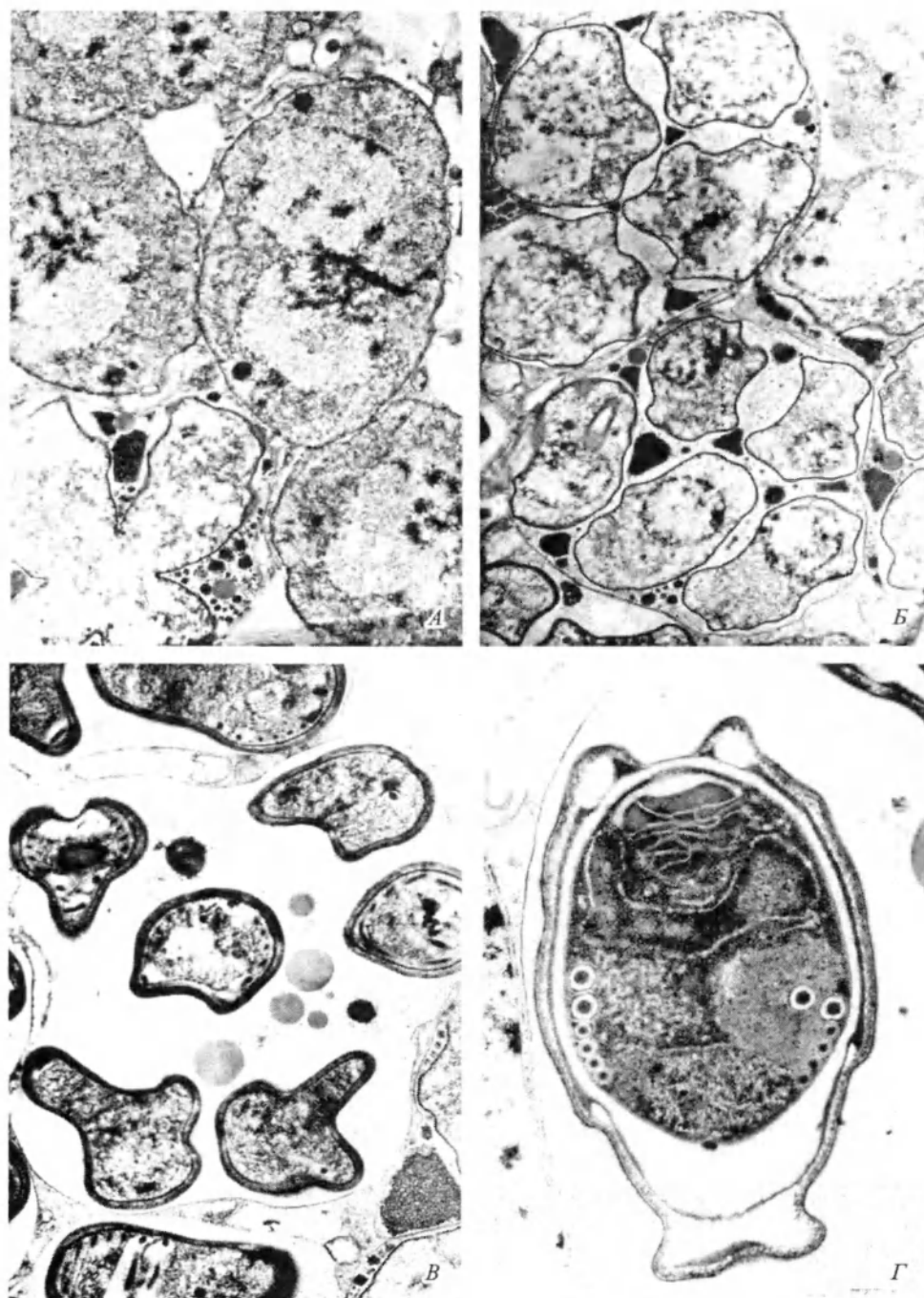


Рис. 1. Ультратонкое строение стадий развития и спор *Parathelohania divulgata* sp. n. ЭМ.
 А — поздние меронты, делящийся споронт; Б — спорофорные пузырьки с разделившимися споронтами; В — морфогенез спор; Г — зрелая спора.

Fig. 1. Ultrastructure of sporogonial stages and spores *Parathelohania divulgata* sp. n.

Споронты имеют овальную или округлую форму с ровными краями. Они окружены тонкой однослойной электронноплотной оболочкой. Ядра споронтов округлые, имеют двухмембранную оболочку с большим количеством пор. Иногда удается наблюдать деление ядер. После деления ядра расходятся на периферию, затем происходит деление цитоплазмы и обособление споробластов. Споробласты овальной формы, окружены двухслойной оболочкой, ядра имеют овальную форму, цитоплазма зернистая. Процесс морфогенеза спор типичен.

Зрелые споры удлинненно-овальной формы, передний полюс усечен, имеет 2 шипа, образованные складками экзоспоры размером по 0.4 мкм. Задний полюс сужен, имеет выступ, образованный утолщением эндоспоры размером 0.6—0.8 мкм и несущий на себе 2 шипа по 0.35—0.5 мкм (складки экзоспоры). От заднего выступа к переднему полюсу идут ребра, образованные складками экзоспоры.

Оболочка споры трехслойная, толщиной 190—220 нм. Экзоспора двухмембранная, толщиной 15 нм, первый слой электроннопрозрачный, второй — электронноплотный. Субэкзоспора двухслойная, один слой рыхлый, зернистый, толщиной 70—80 нм, второй — электронноплотный (30 нм). Эндоспора электроннопрозрачная толщиной 75—95 нм. Внутреннее содержимое споры одето плазматической мембраной.

На переднем полюсе находится полярный якорный диск грибовидной формы, окруженный собственной однослойной мембраной.

Поляропласт состоит из 3 приблизительно равных по размерам частей. 1-я часть состоит из крупных пластин неправильной формы с электронноплотным внутренним содержимым, ее покрывает полярный сак. На поперечном срезе 1-я часть поляропласта выглядит как скопления везикул. 2-я часть представлена рыхлолежащими пластинами, заполненными веществом зернистой структуры, и, наконец, 3-я часть состоит из плотнолежащих пластин. Каждая пластина ограничена мембраной.

Полярная трубка анизофилярная, имеет 6—7 витков, из которых 2 — толстые (160—220 нм) и 4—5 — тонкие (100—120 нм).

Задняя вакуоль окружена однослойной мембраной и заполнена веществом различной электронной плотности, имеющим зернистую структуру.

Дифференциальный диагноз. Проводя идентификацию вышеописанного вида, следует отметить, что его мейоспоры на заднем выступе несут 2 шипа, поэтому сравнение будет проведено с ранее описанными видами микроспориций, споры которых также содержат 2 шипа на заднем выступе. Описываемый нами вид микроспориций сходен по размерам спор с *Parathelohania anophelis* (Hazard, Anthony, 1974), *P. evanase* (Garcia, Becnel, 1994), *P. illinoisensis* (Hazard, Anthony, 1974) и *P. octolagenella* (Hazard, Anthony, 1974). По общему количеству витков полярной трубки сходен с *P. anophelis*, *P. illinoisensis*, *P. chagrasensis* (Hazard, Anthony, 1974) и *P. obesa* (Hazard, Anthony, 1974). Однако по ряду признаков он отличается от вышеперечисленных видов.

От *P. anophelis* отличается соотношением толстых и тонких витков полярной трубки; от *P. evanase* — формой спор, размерами выступа и шипов, количеством витков полярной трубки (9(5 + 4)); от *P. obesa* — формой и размерами спор, разным соотношением толстых и тонких витков полярной трубки (7(3 + 4)); от *P. octolagenella* — формой спор, количеством витков полярной трубки (8(2 + 6)); от *P. chagrasensis* — формой и размерами спор, размерами выступа и шипов; от *P. illinoisensis* — формой спор, размерами выступа и шипов. От вышеперечисленных микроспориций описываемый

вид отличается также формой и строением споронтов, строением гранул секрета спорофорного пузырька, а также строением поляропласта октоспор (у вышеперечисленных видов он имеет пластинчатое строение). От *P. tomski* sp. n. и *P. teguldeti* sp. n., описанных ниже, рассматриваемый вид отличается характером спорогонии (формой споронтов, включениями эписпорального пространства), а также формой мейоспор, размером шипов на переднем полюсе, наличием ярко выраженных боковых складок экзоспоры. Перечисленные отличия дают нам основания для описания нового вида *Parathelohania divulgata* sp. n. Видовое название микроспоридии («широко распространенная») дано в связи с ее широким распространением по территории Западной Сибири и в Казахстане.

Электроннограммы (№№ 22 524—22 530, 22 545—22 565, 22 807—22 815, 22 825—22 830) находятся в коллекции кафедры зоологии беспозвоночных Томского государственного университета.

Parathelohania formosa sp. n. (рис. 2, см. вкл.)

Хозяин: комары *Anopheles messeae* F., 1926; личинки.

Локализация: жировое тело.

Место и время обнаружения: водоемы поймы р. Томи (окр. г. Томска, пос. Коларово Томского р-на), июль 1994 г.; постоянные материковые водоемы (окр. пос. Тимирязево Томского р-на), июль 1997 г.

Описание паразита. СМ. На мазках обнаружены стадии меро- и спорогонии. Меронты — клетки неправильной формы размером $6.3\text{--}6.5 \times 6.4\text{--}6.5$ мкм. Стадии спорогонии представлены одно- ($7.4\text{--}7.5 \times 7.3\text{--}7.5$ мкм), двух- ($9.8\text{--}9.9 \times 7\text{--}7.2$ мкм), четырех- ($8.3\text{--}8.5 \times 8.8\text{--}8.9$ мкм) и восьми-ядерными ($8.8\text{--}8.9 \times 8.8\text{--}8.9$ мкм) споронтами. Споробласты по 8 заключены в спорофорный пузырек размером $9.0\text{--}9.1 \times 9.0\text{--}9.2$ мкм.

Зрелые споры после фиксации имеют удлинено-овальную форму, передний полюс усечен, задний сужен, несет 2 шипа. Размеры фиксированных спор $4.5\text{--}4.9 \times 2.5\text{--}2.8$ мкм.

ЭМ. Спорофорный пузырек. Стадии спорогонии и зрелые споры окружены однослойным прочным мембраноидом спорофорного пузырька. Оболочка сохраняется вокруг зрелых спор. Эписпоральное пространство заполнено большим количеством секрета различной структуры. Секрет представлен зернистой массой и шарообразными гранулами с однородным внутренним содержимым диаметром до 0.55 мкм. По мере созревания спор количество секрета уменьшается.

Стадии развития. Изучены стадии мерогонии и спорогонии. Поздние меронты представляют собой овальные или округлые клетки, окруженные плазматической мембраной. Ядра меронтов диплокариотические, внутри видны скопления хроматина. Цитоплазма меронтов и споронтов зернистой структуры, содержит эндоплазматический ретикулум, скопления которого наблюдаются вокруг ядер. Споронты округлой или овальной формы, окружены тонкой однослойной электронноплотной оболочкой, имеющей гранулированную структуру. Ядра споронтов крупные, окружены двухмембранной оболочкой, внутреннее содержимое различной электронной плотности. Деление ядер споронтов, которые затем смещаются на периферию, сопровождается обособлением споробластов, протекающим в виде почкования. У молодых споронтов цитоплазма зернистой структуры за счет свободнолежащих рибосом, по мере развития она вакуолизируется. В результате поч-

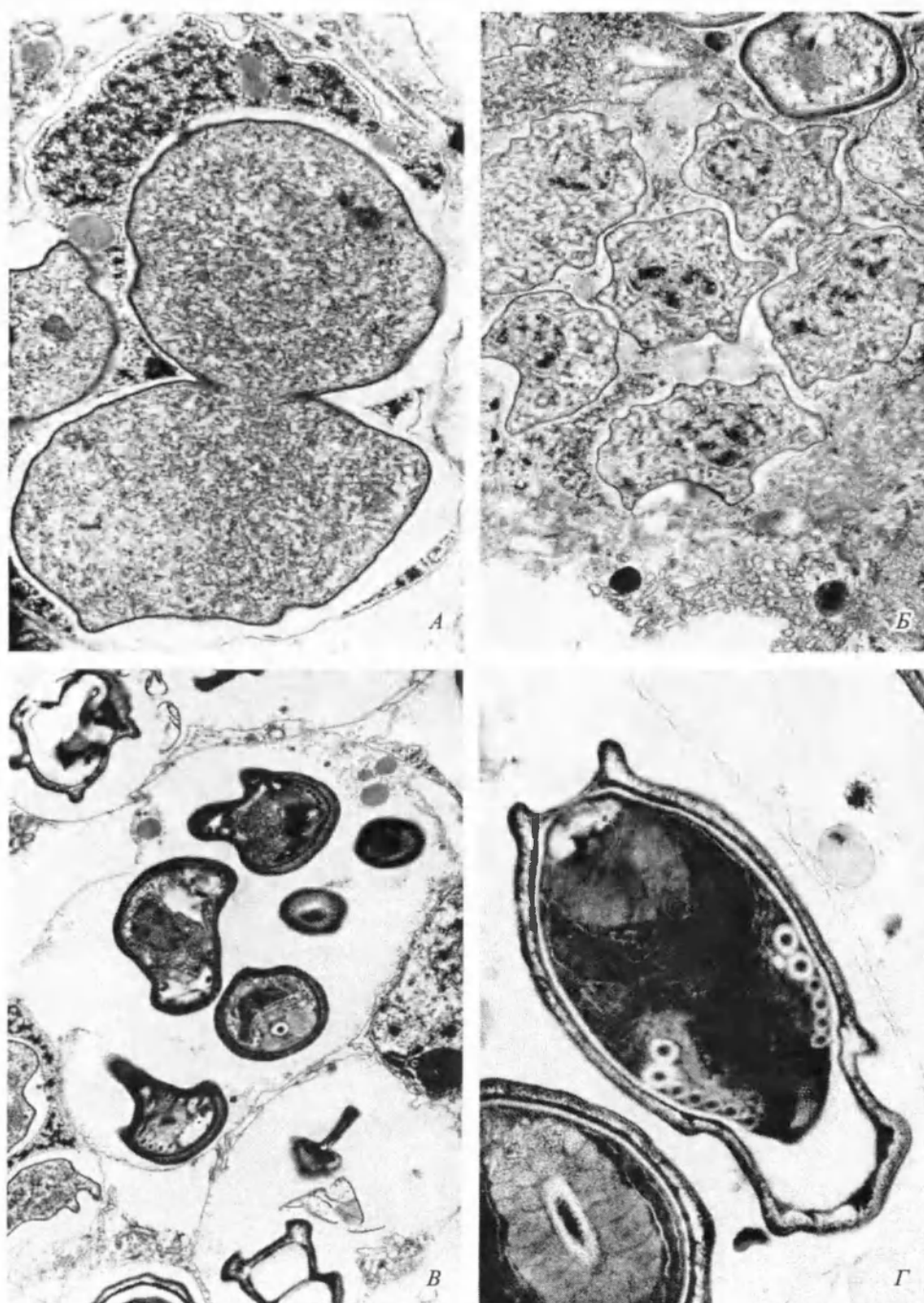


Рис. 2. Ультратонкое строение стадий развития и спор *Parathelohania formosa* sp. n. ЭМ.
 А — спорофорный пузырек с делящимся споронтом, Б — спорофорный пузырек с разделившимся споронтом, В — морфогенез спор, Г — зрелая спора.

Fig. 2. Ultrastructure of sporogonial stages and spores *Parathelohania formosa* sp. n.

кования образуются одноядерные споробласты, окруженные двухслойной оболочкой. Процесс морфогенеза спор типичен для микроспоридий. Ядро окружается рядами шероховатого эндоплазматического ретикулума (ШЭР). Происходит формирование многослойной оболочки. Аппарат экстррузии формируется при участии аппарата Гольджи, расположенного ближе к заднему полюсу споробласта.

Зрелые споры удлинённо-овальной формы, передний полюс слегка усечен и вогнут за счет уменьшения толщины эндоспоры. Он несет 2 коротких шипа, образованных экзоспорой. Размер шипов 0.21 мкм. На заднем полюсе выступ, образованный за счет утолщения эндоспоры, размером 0.53 мкм без шипов. От заднего выступа к переднему полюсу по поверхности споры идут четко выраженные ребра. Индекс спор 1.9.

Оболочка споры трехслойная толщиной 180—250 нм. Экзоспора двухмембранная, первый слой электроннопрозрачный (10 нм), второй — электронноплотный (10—30 нм). Субэкзоспора состоит из 2 слоев, один слой рыхлый, зернистый (толщина 50—90 нм), второй — электронноплотный (20—30 нм). Эндоспора электроннопрозрачная толщиной 90 нм. Внутреннее содержимое споры выстлано тонкой плазматической мембраной.

Ядро неправильной формы, лопастевидное; окружено 2—3 слоями ШЭР, внутреннее содержимое электронноплотное.

На переднем полюсе находится полярный якорный диск грибовидной формы, окруженный однослойной мембраной, имеет зернистое внутреннее содержимое.

Поляропласт состоит из 3 частей, все его части приблизительно одинаковые по размерам. 1-я часть состоит из крупных пластин неправильной формы с электронноплотным внутренним содержимым, 2-я часть — рыхлолежащие пластины, заполненные веществом зернистой структуры, и, наконец, 3-я часть состоит из плотнолежащих пластин.

Полярная трубка анизотропная, имеет 6.5—7 витков, из которых 2 — толстые (140—170 нм) и 4.5—5 — тонкие (100 нм).

На заднем полюсе споры расположена задняя вакуоль, которая занимает около 1/3 пространства споры и при формировании представляет собой скопление плотно лежащих трубочек (постеросома). Задняя вакуоль зрелых спор ограничена мембраной и заполнена веществом различной электронной плотности и зернистой структуры.

Дифференциальный диагноз. В настоящее время известно 5 видов микроспоридий рода *Parathelohania*, не имеющих шипов на заднем выступе мейоспор. Сравнение признаков описываемой нами микроспоридии с этими видами показало, что она сходна по размерам и индексу спор с *P. octolagenella* (Hazard, Anthony, 1974), *P. detinovae* (Килочицкий, 1998) и *P. issiae* (Килочицкий, 1998). По числу витков полярной трубки, соотношению толстых и тонких витков описываемый вид сходен также с *P. detinovae*. Однако описываемая нами микроспоридия отличается от вышеперечисленных видов формой спор, размерами выступа на заднем полюсе споры, строением поляропласта, числом и соотношением витков полярной трубки, а также наличием уникального зернистого секрета, заполняющего все эписпоральное пространство спорофорного пузырька. На основании этого данную микроспоридию можно описать как новый вид *Parathelohania formosa* sp. n. Название вида микроспоридии — «красивая».

Электроннограммы (№ 20207—20213, 20135—20140, 20520—20527, 22800—22806, 0081—0085) находятся в коллекции кафедры зоологии беспозвоночных Томского государственного университета.

Parathelohania sibirika sp. n. (рис. 3, см. вкл.)

Хозяин: комары *Anopheles messeae* F., 1926; личинки.

Локализация: жировое тело.

Место и время обнаружения: пойменный водоем р. Томи (окр. г. Томска), июль 1996 г.

Описание паразита. СМ. На мазках обнаружены стадии спорогонии: одно- ($7.0-7.2 \times 7.1-7.2$ мкм), двух- ($7.3-7.5 \times 8.2-8.3$ мкм), четырех- ($9.0-9.2 \times 8.0-8.2$ мкм) и восьмиядерные ($10.0-10.3 \times 10.1-10.3$ мкм) споронты. Споробласты лежат группами по 8 в панспоробласте ($10.9-11.0 \times 9.5-9.7$ мкм).

Зрелые споры после фиксации имеют удлиненно-овальную бутылковидную форму, передний полюс сужен, несет 2 шипа, задний — имеет выступ. Размеры фиксированных спор $6.0 \pm 0.1 \times 2.8 \pm 0.09$ мкм.

ЭМ. Спорофорный пузырек. Стадии спорогонии и зрелые споры окружены однослойным прочным мембраноидом спорофорного пузырька, который имеет гранулированную структуру и сохраняется вокруг зрелых спор. Эписпоральное пространство заполнено большим количеством гранул секрета различной структуры. Спорофорный пузырек со споронтами содержит крупные округлые полупрозрачные гранулы секрета диаметром до 0.9 мкм, а также небольшое количество трубчатого и везикулярного секрета. По мере созревания спор крупные гранулы исчезают, и остается небольшое количество трубчатого секрета, который лежит свободно в полости спорофорного пузырька.

Стадии развития. Изучены стадии мерогонии и спорогонии. Меронты лентовидной формы, ограничены плазматической мембраной. Ядра меронтов диплокариотические, внутреннее содержимое представлено рыхлым хроматином. Цитоплазма содержит большое количество эндоплазматического ретикулума. Споронты неправильной, лентовидной или амeboидной формы, окружены тонкой однослойной, сильно гранулированной электронноплотной оболочкой. Ядра споронтов неправильной формы, окружены двухмембранной оболочкой. Цитоплазма зернистая за счет свободных рибосом, содержит вакуоли, эндоплазматический ретикулум, скопление которого наблюдается вокруг ядер. Размножаются путем почкования или фрагментации споронта на неравные части.

Споробласты имеют неправильную или округлую форму, окружены двухслойной оболочкой, одноядерные, цитоплазма зернистая. Процесс морфогенеза спор типичен для микроспоридий.

Зрелые споры удлиненно-овальной формы, передний полюс имеет 2 шипа, образованные складками экзоспоры размером по 0.28 мкм. На заднем полюсе — выступ, который образуется за счет утолщения эндоспоры и имеет размеры 0.75 мкм. От заднего выступа к переднему полюсу идут четко выраженные боковые ребра.

Оболочка споры трехслойная толщиной 230 нм. Экзоспора двухслойная, толщиной 37 нм, первый слой электроннопрозрачный, второй — электронноплотный. Субэкзоспора рыхлая, зернистая, толщиной 100 нм. Эндоспора электроннопрозрачная, толщиной 83 нм. Внутреннее содержимое споры выстлано тонкой плазматической мембраной.

Ядро лопастевидное, расположено в срединной части споры, окружено 1—3 рядами ШЭР.

Поляропласт состоит из 3 частей и занимает 2/3 части споры. 1-я часть везикулярная, состоит из везикул неправильной формы, заполненных зер-

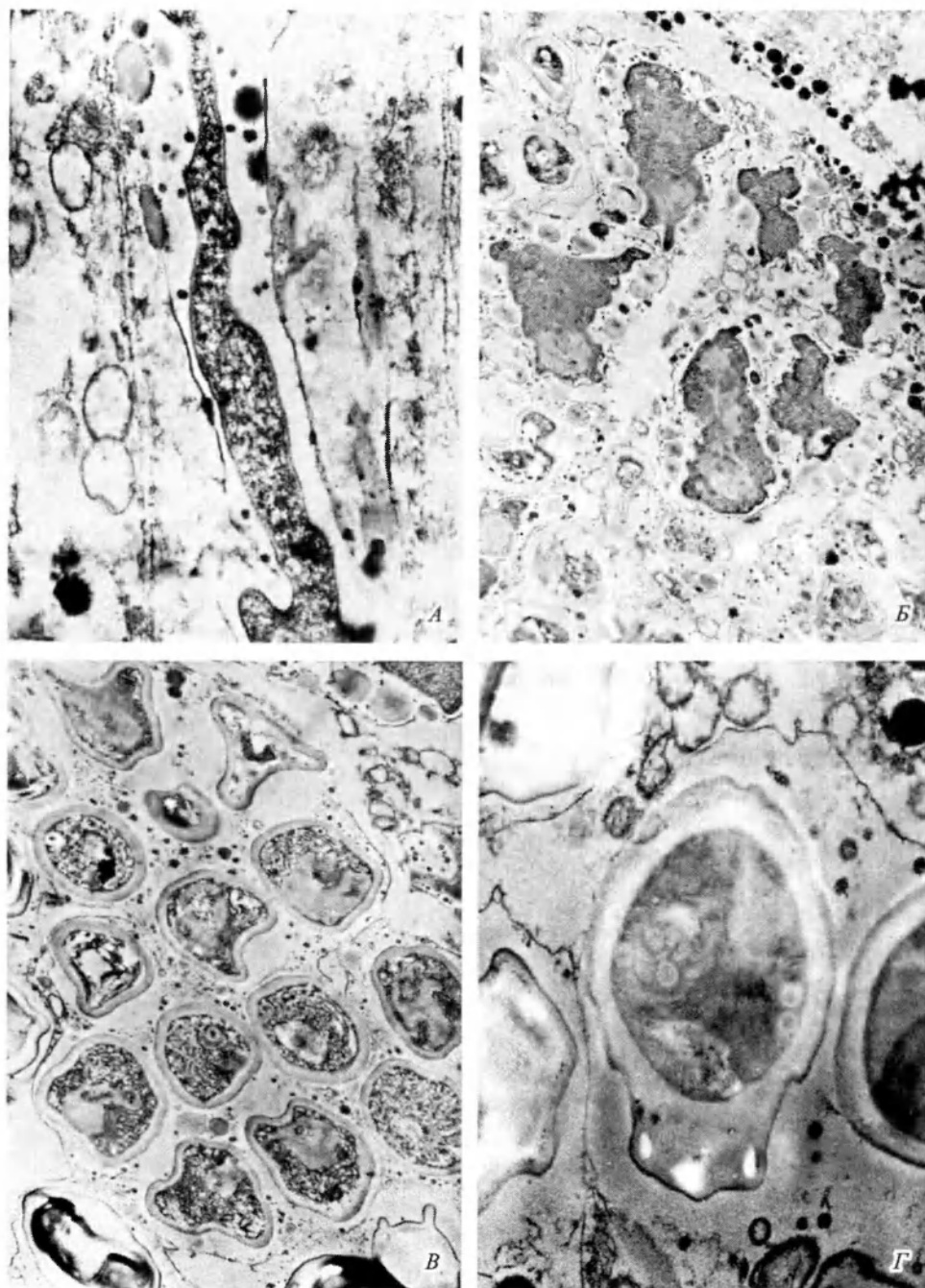


Рис. 3. Ультратонкое строение стадий развития и спор *Parathelohania sibirika* sp. n. ЭМ.
 А — спорофорный пузырек с делящимся лентовидным споронтом, Б — спорофорные пузырьки со споронтами, В — спорофорные пузырьки со споробластами, Г — зрелая спора.

Fig. 3. Ultrastructure of sporogonial stages and spores *Parathelohania sibirika* sp. n.

нистым веществом. 2-я — из рыхлолежащих пластин, и, наконец, 3-я часть состоит из плотнолежащих пластин.

Полярная трубка анизофилярная, имеет 6 витков, из которых 2 — толстые (200 нм) и 4 — тонкие (150 нм).

Задняя вакуоль ограничена мембраной и заполнена зернистым гетерогенным содержимым.

Дифференциальный диагноз. Сравнение признаков описываемой нами микроспоридии показало, что данная микроспоридия отличается от всех ранее описанных видов рода *Parathelohania* крупными размерами фиксированных спор. Сравнивая данный вид с другими видами рода *Parathelohania*, мейоспоры которых не образуют шипы на заднем выступе, надо отметить, что от *P. africana* (Hazard, Anthony, 1974) и *P. detinovae* (Килочицкий, 1998) она отличается формой спор, строением полярного пласта; от *P. obesa* (Hazard, Anthony, 1974), *P. octolagenella* (Hazard, Anthony, 1974) и *P. issiae* (Килочицкий, 1998) — формой спор, строением полярного пласта, числом и соотношением витков полярной трубки; от *P. formosa* sp. n. — строением и толщиной оболочки спор, строением полярного пласта, числом витков полярной трубки, их толщиной. Таким образом, уникальность данного вида микроспоридий заключается в форме споронтов (лентовидные и амебоидные), структуре гранул секрета спорофорного пузырька, крупных размерах ооцистов, строении оболочки спор (субэкзоспора однослойная), строении полярного пласта (передняя часть везикулярная). На основании этого описываемый вид рассматриваем как новый *Parathelohania sibirika* sp. n. Название вида микроспоридии — «сибирская» дано по названию региона, в котором обнаружен данный вид.

Электроннограммы (№ 22450—22457) находятся в коллекции кафедры зоологии беспозвоночных Томского государственного университета.

Parathelohania teguldeti sp. n. (рис. 4, см. вкл.)

Хозяин: комары *Anopheles beklemishevi* Stegnii et Kabanova, 1976; личинки.

Локализация: жировое тело.

Место и время обнаружения: водоемы поймы рек Чулым и Тегульдети (пос. Тегульдети Томской обл.), июль 1997 г.

Описание паразита. СМ. На мазках обнаружены стадии спорогонии: одно- ($5.0\text{--}6.2 \times 5.2\text{--}5.4$ мкм), двух- ($7.3\text{--}8.0 \times 4.9\text{--}6.0$ мкм), четырех- ($6.0\text{--}6.3 \times 4.8\text{--}5.1$ мкм) и восьмиядерные ($10.0\text{--}10.2 \times 10.1\text{--}10.2$ мкм) споронты. Оболочка спорофорного пузырька не прочная, рано разрушается, едва заметна вокруг споронтов, споробласты лежат группами по 8, споры в основном лежат по отдельности.

Зрелые споры после фиксации имеют удлиненно-овальную форму, передний полюс усечен, задний сужен, несет 2 шипа. Размеры фиксированных спор $4.3\text{--}4.9 \times 2.1\text{--}2.3$ мкм.

ЭМ. Спорофорный пузырек. Стадии спорогонии окружены однослойной мембраной спорофорного пузырька. Оболочка имеет гранулированную структуру, не прочная, чаще всего она начинает разрушаться во время деления споронта, однако иногда сохраняется вокруг споробластов. Вокруг зрелых спор остаются лишь фрагменты (остатки) оболочки спорофорного пузырька. Эписпоральное пространство заполнено большим коли-

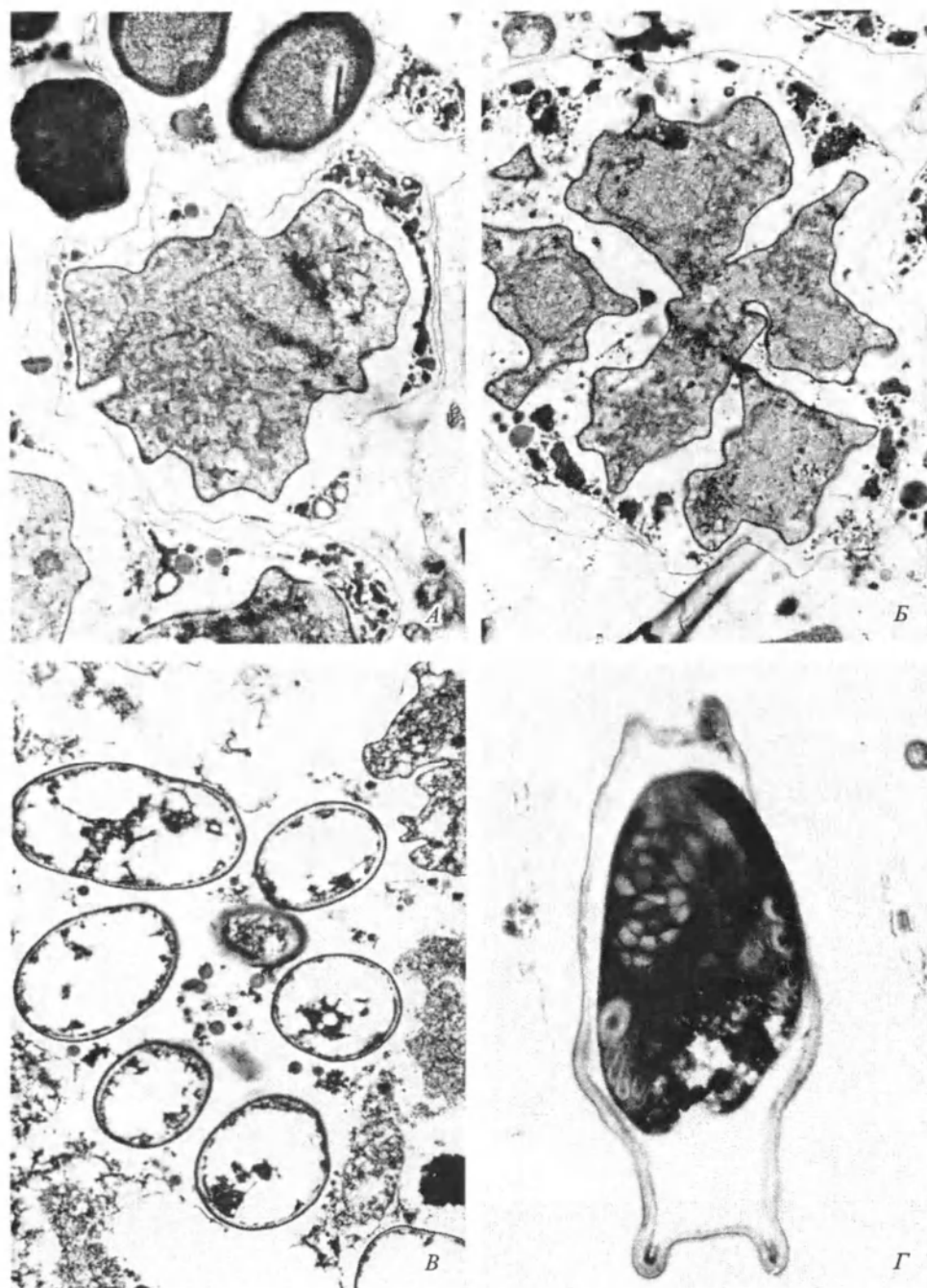


Рис. 4. Ультратонкое строение стадий развития и спор *Parathelohania teguldeti* sp. n. ЭМ.
 А — спорофорный пузырек с молодым одноядерным споронтом, Б — спорофорный пузырек с делящимся
 многоядерным споронтом, В — спорофорный пузырек со споробластами, Г — зрелая спора.

Fig. 4. Ultrastructure of sporogonial stages and spores *Parathelohania teguldeti* sp. n.

чеством гранул секрета различной структуры. Трубочатый секрет собирается в осмиофильные округлые гранулы, достигающие в диаметре 0.6 мкм; внутри такие гранулы могут иметь вакуолеподобные электроннопрозрачные образования. Трубочатый секрет может также свободно лежать в полости спорофорного пузырька. Шаровидные гранулы секрета с однородным внутренним содержимым достигают в диаметре 0.35 мкм. По мере созревания спор количество секрета уменьшается, остается немного «свободного» трубчатого секрета, а шаровидные гранулы секрета уменьшаются в диаметре.

Стадии развития. Изучены стадии мерогонии и спорогонии. Поздние меронты представляют собой овальные или лентовидные клетки, ограниченные плазматической мембраной. Ядра меронтов диплокариотические, внутри видны рыхлые скопления хроматина. Цитоплазма меронтов зернистая, вокруг ядер наблюдается скопление эндоплазматического ретикулула. Споронты неправильной амебоидной или лентовидной формы, окружены тонкой однослойной гранулированной электронноплотной оболочкой. Ядра споронтов имеют двухмембранную оболочку, внутреннее содержимое гетерогенно. Цитоплазма ранних споронтов имеет мелкозернистую структуру за счет свободнолежащих рибосом, затем вакуолизируется. Деление ядер споронтов сопровождается обособлением споробластов. Размножение, асинхронное путем почкования. В результате образуются одноядерные споробласты, окруженные двухслойной оболочкой, их цитоплазма содержит крупные вакуоли. Формирование эндоспоры и внутреннего содержимого споры происходит внутри споробласта, причем между уже сформировавшейся экзоспорой и эндоспорой имеется пространство, заполненное гетерогенным веществом. Из него, вероятно, в дальнейшем формируется субэкзоспора. Аппарат экстрезии формируется при участии аппарата Гольджи, расположенного ближе к заднему полюсу споробласта.

Зрелые споры удлинено-овальной формы, передний полюс усечен, имеет 2 шипа, образованные складками экзоспоры размером по 0.3 мкм. На заднем полюсе — выступ, который образован за счет утолщения эндоспоры и имеет размеры 0.43—0.7 мкм. Выступ несет на себе два шипа, образованные складками экзоспоры размером 0.4—0.5 мкм. Оболочка споры трехслойная, толщиной 200—225 нм. Экзоспора двухслойная, первый слой электроннопрозрачный (10 нм), второй — электронноплотный (10 нм). Субэкзоспора двухслойная, один слой рыхлый, зернистый, толщиной 70—80 нм, второй — электронноплотный (20—30 нм). Эндоспора электроннопрозрачная, толщиной 80—95 нм. Внутреннее содержимое споры ограничено плазматической мембраной.

Ядро окружено 3—4 слоями ШЭР. Содержимое ядра электронноплотное.

На переднем полюсе расположен полярный якорный диск грибовидной формы, окруженный собственной мембраной.

Поляропласт состоит из 3 частей, которые приблизительно одинаковы по размерам. 1-я часть состоит из крупных пластин неправильной формы с электронноплотным внутренним содержимым, 2-я часть образована рыхлорасположенными пластинами, заполненными зернистым материалом, и, наконец, 3-я часть состоит из плотно упакованных пластин.

Полярная трубка анизотропная, имеет 6.5—7 витков, из которых 2 — толстые (180—190 нм) и 4.5—5 — тонкие (100—110 нм).

Задняя вакуоль ограничена мембраной и заполнена гетерогенным материалом различной электронной плотности.

Дифференциальный диагноз. Описываемый нами вид микроспоридий впервые выделен из личинок кровососущих комаров *Anopheles beklemishevi*. Он имеет ряд морфологических отличий от ранее описанных видов микроспоридий рода *Parathelohania*. По размерам спор, а также общему числу витков полярной трубки описываемый вид сходен с таковыми *P. anophelis* (Hazard, Anthony, 1974), *P. illinoisensis* (Hazard, Anthony, 1974), *P. tomski* sp. n. (описанной в данной статье). По форме спор сходен с *P. anophelis*, однако отличается от нее рядом ультраструктурных особенностей спор: размерами выступа на заднем полюсе спор, строением поляропласта, соотношением толстых и тонких витков полярной трубки, течением спорогонии. От *P. illinoisensis* отличается формой спор, строением поляропласта и течением спорогонии. Характер спорогонии, форма споронтов, включения эписпорального пространства, форма спор отличают ее от *P. tomski*. На основании этого мы описываем новый вид *Parathelohania teguldeti* sp. n. Название вида микроспоридии дано по ее местонахождению.

Электроннограммы (№ 22754—22765 и 22788—22793) находятся в коллекции кафедры зоологии беспозвоночных Томского государственного университета.

Parathelohania tomski sp. n. (рис. 5, см. вкл.)

Хозяин: комары *Anopheles messeae* F., 1926; личинки.

Локализация: жировое тело.

Место и время обнаружения: водоемы поймы рек Томи (окр. г. Томска, пос. Коларово Томского р-на), август 1993 г. и Чулыма (пос. Тегульдет Тегульдетского р-на), июль 1996, 1997 гг.

Описание паразита. СМ. На мазках обнаружены стадии меро- и спорогонии. Меронты размером $5.0\text{--}5.1 \times 5.2\text{--}5.3$ мкм. Стадии спорогонии: одно- ($5.0\text{--}5.1 \times 5.0\text{--}5.1$ мкм), двух- ($8.0\text{--}8.2 \times 6.0\text{--}6.1$ мкм), четырехядерные ($10.0\text{--}10.1 \times 8.0\text{--}8.3$ мкм) споронты, спорофорный пузырек с 8 споробластами ($10.0\text{--}10.2 \times 8.5\text{--}8.7$ мкм).

Зрелые споры удлинено-овальные, передний полюс усечен, задний сужен, несет 2 неярко выраженных шипа. Размеры фиксированных спор $4.4\text{--}4.9 \times 2.1\text{--}2.5$ мкм.

ЭМ. Спорофорный пузырек. Стадии спорогонии и зрелые споры окружены однослойной прочной оболочкой, имеющей мембранное строение. Оболочка сохраняется вокруг зрелых спор. Эписпоральное пространство заполнено большим количеством гранул секрета различной структуры. Трубочатый секрет собирается в осмиофильные скопления, похожие по форме на «ежики» размером до 2 мкм. Кроме этого, трубчатый секрет лежит свободно. Сферические гранулы секрета с однородным внутренним содержимым достигают в диаметре 0.8 мкм. По мере созревания спор количество гранул секрета уменьшается, остается небольшое количество трубчатого секрета, трубочки лежат свободно. Сферические гранулы секрета уменьшаются в диаметре.

Стадии развития. Стадии мерогонии не обнаружены. Споронты имеют неправильную амебоидную форму, окружены тонкой оболочкой, имеющей гранулированную структуру. В некоторых местах оболочка связана со скоплениями гранул секрета трубчатой структуры. Цитоплазма споронтов сильно вакуолизирована, кажется зернистой за счет свободнолежащих рибосом и содержит эндоплазматический ретикулум. Ядра споронтов крупные, окружены двухмембранной оболочкой, ядерное содержимое гетерогенно. Деле-

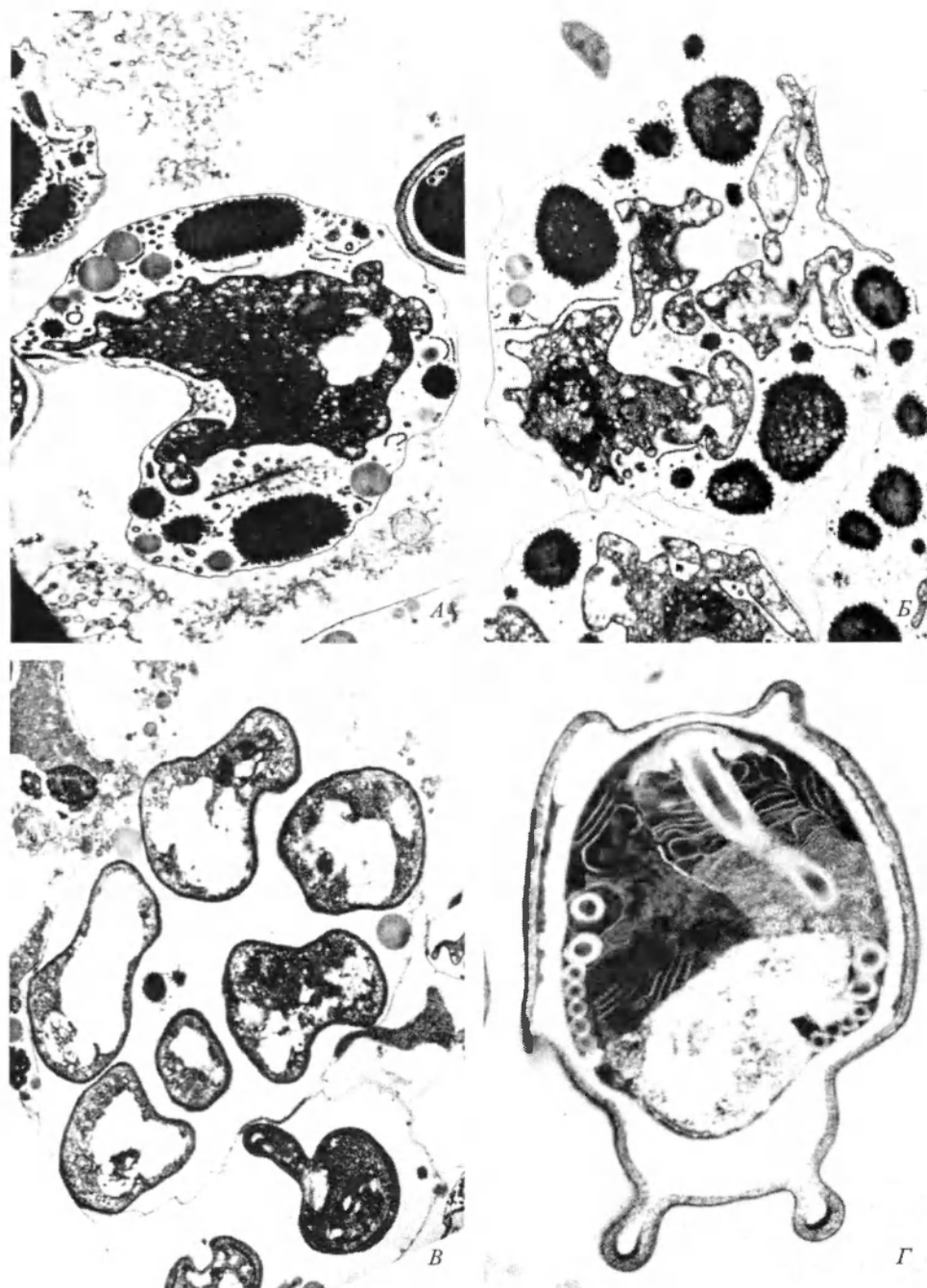


Рис. 5. Ультратонкое строение стадий развития и спор *Parathelohania tomski* sp. n. ЭМ.
 А — спорофорный пузырек с молодым одноядерным споронтом, Б — спорофорный пузырек с делящимся споронтом, В — спорофорный пузырек со споробластами, Г — зрелая спора.

Fig. 5. Ultrastructure of sporogonial stages and spores *Parathelohania tomski* sp. n.

ние ядер споронтов сопровождается обособлением споробластов путем почкования. В результате образуются одноядерные споробласты, окруженные двухслойной оболочкой. Процесс морфогенеза спор типичен для микроспоридий. Ядро окружается слоями ШЭР. Происходит формирование многослойной оболочки. Аппарат экстрюзии формируется за счет аппарата Гольджи, расположенного ближе к заднему полюсу споробласта.

Зрелые споры типичного для рода *Parathelohania* строения, удлинено-овальной формы, передний полюс слегка усечен, имеет 2 шипа размером 0.3 мкм. На заднем полюсе выступ, образованный утолщением эндоспоры размером 0.54 мкм с двумя ярко выраженными шипами по 0.5 мкм, имеются боковые складки оболочки. Индекс спор 1.9.

Оболочка споры трехслойная, толщиной 190—250 нм. Экзоспора двухслойная, первый слой электронно-прозрачный (10 нм), второй — электронноплотный (10 нм). Субэкзоспора двухслойная, один слой рыхлый, зернистый, толщиной 50—80 нм, второй — электронноплотный (20—40 нм). Эндоспора электроннопрозрачная, толщиной 100—110 нм. Внутреннее содержимое споры ограничено плазматической мембраной.

Посередине споры расположено ядро неправильной формы. Оно окружено 2—3 слоями ШЭР, внутреннее содержимое электронноплотное.

На переднем полюсе находится полярный якорный диск грибовидной формы, окруженный собственной мембраной.

Поляропласт состоит из 3 частей, все его части приблизительно одинаковые по размерам. 1-я часть состоит из пластин неправильной формы с электронноплотным внутренним содержимым, 2-я образована рыхлолежащими пластинами, заполненными зернистым материалом, и, наконец, 3-я часть состоит из плотно упакованных пластин.

Полярная трубка анизотропная, имеет 6.5—7 витков, из которых 2 — толстые (160—190 нм) и 4.5—5 — тонкие (80—110 нм).

На заднем полюсе расположена крупная задняя вакуоль, которая занимает около 1/3 пространства споры. Она ограничена мембраной и заполнена гетерогенным материалом.

Дифференциальный диагноз. Сравнение признаков описываемой микроспоридии показало, что по размерам спор и наличию крупных гранул секрета в полости спорофорного пузырька она сходна с *P. anophelis* (Hazard, Anthony, 1974), *P. octolagenella* (Hazard, Anthony, 1974), *P. detinovae* (Килочицкий, 1998) и *P. issiae* (Килочицкий, 1998). По форме спор данная микроспоридия сопоставима с *P. chagrasensis* (Hazard, Oldacre, 1975). При сравнении спор по числу витков полярной трубки, соотношению толстых и тонких витков этот вид сопоставим с *P. detinovae*, *P. chagrasensis* и *P. illinoisensis* (Hazard, Anthony, 1974). Однако описываемая нами микроспоридия по ряду характерных признаков отличается от вышеуказанных видов тем, что имеет амебоидные споронты с сильно вакуолизированной цитоплазмой, уникальные включения эписпорального пространства — «ежики», споры с хорошо выраженными шипами на заднем полюсе, а также поляропластом, состоящим из 3 частей и крупной задней вакуолю. На основании этого данную микроспоридию можно описать как новый вид *Parathelohania tom-ski* sp. n. Название вида микроспоридии дано по названию ее местонахождения.

Электроннограммы (№ 20230—20238, 22516—22523, 22865—22871) находятся в коллекции кафедры зоологии беспозвоночных Томского государственного университета.

ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании описанных нами видов микроспоридий на уровне световой микроскопии явных отличий обнаружено не было, спорогония протекает по общему принципу: одноядерный споронт имеет крупное темноокрашенное ядро, вокруг которого расположен слой светло-фиолетовой цитоплазмы. Многоядерные споронты имеют овальную или округлую форму, четырехядерный споронт в форме «Мальтийского креста», восьмиядерный — «розетковидный». Размножаются почкованием — споробласты образуются путем обособления цитоплазмы вокруг разделившихся ядер. Они лежат группами по 8 в панспоробласте. Оболочка спорофорного пузырька прочная, сохраняется вокруг зрелых спор. Эписпоральное пространство заполнено гранулами секрета. Зрелые споры после фиксации удлинено-овальные, передний полюс усечен, имеет 2 шипа, задний — сужен и тоже несет 2 шипа. И только электронно-микроскопические исследования позволили дать подробное описание ультраструктуры стадий развития и мейоспор данных видов и определить их систематическое положение.

Стадии развития и ультраструктуры мейоспор описанных 2 видов микроспоридий характерны для *Parathelohania*. Развитие паразита внутри клеток жирового тела личинок кровососущих комаров включает мерогонию, спорогонию и спорогенез, которые практически идентичны у всех видов. Меронты ограничены плазматической мембраной, имеют диплокариотические ядра и размножаются путем бинарного деления. Формирование споронта начинается с появления дополнительной внешней мембраны на отдельных участках поверхности меронта. Процессы спорогонии и спорогенеза протекают в спорофорном пузырьке, окруженном однослойным прочным мембраноидом. Эписпоральное пространство заполнено большим количеством гранул секрета различной структуры, количество которого уменьшается по мере созревания мейоспор. Вслед за делением ядер осуществляются деление цитоплазмы и обособление клеток споробластов (по 8 в каждом спорофорном пузырьке). Процесс морфогенеза спор типичен, происходит формирование сложноустроенной оболочки и аппарата экстрезии при помощи аппарата Гольджи. Ультраструктура мейоспор также характерна для рода *Parathelohania*: оболочка трехслойная (тонкая двухслойная экзоспора (наружный слой электроннопрозрачный, внутренний — электронноплотный), толстая двухслойная субэкзоспора (первый слой рыхлый, второй — электронноплотный), относительно тонкая электроннопрозрачная эндоспора, тонкая плазматическая мембрана). Складки экзо- и субэкзоспоры формируют шипы и ребра на поверхности спор, эндоспора утолщена на заднем полюсе, образуя выступ, ядро одно, полярная трубка анизофилярная.

Все вышеописанные виды имеют ряд общих ультраструктурных морфологических черт. Процессы спорогонии протекают в спорофорном пузырьке, имеющем прочную оболочку, лишь у микроспоридий *P. teguldeti* оболочка спорофорного пузырька не прочная и разрушается на ранних этапах морфогенеза спор. В эписпоральном пространстве содержатся идентичные шарообразные гранулы секрета. Размеры фиксированных спор колеблются в пределах $4.3\text{--}5.3 \times 2.1\text{--}3.2$ мкм, только микроспоридии *P. sibirika* имеют более крупные размеры (6×2.8 мкм). Полярная трубка содержит 6—7 витков, из которых, как правило, 2 — толстых и 4—5 — тонких.

Результаты наших исследований выявили оригинальное строение полярного пласта мейоспор. Как известно, все описанные в литературе виды микроспоридий рода *Parathelohania* имеют пластинчатый полярный пласт. Споры

вышеописанных микроспоридий содержат сложноустроенный трехслойный полярнопласт, что отличает их от всех выделенных ранее видов рода *Parathelohania*. Он состоит из крупных пластин с электронноплотным внутренним содержимым, везикул с зернистым внутренним содержимым и плотнолежащих пластин. Все 3 части полярнопласта приблизительно одинаковые по размерам.

Микроспоридии рода *Parathelohania* преимущественно паразиты кровососущих комаров рода *Anopheles*. На территории Томской обл. зарегистрировано 2 вида комаров данного рода: *An. messeae* и *An. beklemishevi*. У комаров *An. messeae* выделено 4 вида микроспоридий рода *Parathelohania* (*P. divulgata*, *P. formosa*, *P. sibirica* и *P. tomski*), у *An. beklemishevi* — 2 вида (*P. divulgata* и *P. teguldeti*), вероятно, это связано с тем, что комары *An. messeae* являются массовыми в исследованном регионе в отличие от *An. beklemishevi*, встречающегося значительно реже.

Выделенные микроспоридии хозяиноспецифичны, только род *P. divulgata* имеет 2 хозяина и зарегистрирован у *An. messeae* и *An. beklemishevi*.

Микроспоридии рода *Parathelohania* выявлены нами во всех исследованных типах водоемов, местах выплода комаров рода *Anopheles*. Наиболее богатые видами оказались пойменные водоемы (реки Томь — *P. formosa*, *P. sibirica* и *P. tomski* и Чулым — *P. divulgata*, *P. teguldeti* и *P. tomski*). Это связано с тем, что исследованные нами пойменные водоемы наиболее благоприятны для развития в них личинок малярийных комаров, где их численность достигает максимальных пределов.

Авторы выражают благодарность кандидату биологических наук А. К. Сибатаеву за помощь в сборе материала.

Список литературы

- Воронин В. Н. О макросистеме типа Microsporidia Balbiani, 1882 // Паразитология. 2001. Т. 35, вып. 1. С. 35—44.
- Воронин В. Н., Исси И. В. О методиках работы с микроспоридиями // Паразитология. 1974. Т. 8, вып. 3. С. 272—273.
- Килочицкий П. Я. Новые виды микроспоридий кровососущих комаров северных областей Украины // Вестн. зоол. 1998. № 1—2. С. 30—39.
- Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. М.: «Мир», 1975. 314 с.
- Avery S. W. Horizontal transmission of *Parathelohania obesa* (Protozoa: Microsporidia) to *Anopheles quadrimaculatus* (Diptera: Culicidae) // In. Pathol. 1989. Т. 53. P. 424—426.
- Avery S. W., Undeen A. H. Horizontal transmission of *Parathelohania anophelis* to the copepod, *Microcyclops varicans* and the mosquito, *Anopheles quadrimaculatus* // In. Pathol. 1990. Т. 56. P. 98—105.
- Garcia J. J., Becnel J. J. Eight new species of Microsporidia (Microspora) from Argentine mosquitoes (Diptera: Culicidae) // In. Pathol. 1994. Т. 64, N 3. P. 243—352.
- Hazard E. I., Anthony D. W. A redescription of the genus *Parathelohania* Codreanu, 1966 (Microsporidia: Protozoa) with a reexamination of previously described species of *Thelohania* Henneguy 1892 and descriptions of two new species of *Parathelohania* from anopheline mosquitoes // US Dep. Agr. Techn. Bull. 1974. N 1505. ARS. 26 p.
- Hazard E. I., Oldacre S. W. Revision of microsporidia (Protozoa) close to *Thelohania*, with description new family, eight new genera, and thirteen new species // U. S. Dept. Agric. Techn. Bull. 1975. N 130. P. 1—104.

Филиал ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ,
Томский государственный университет

Поступила 24 V 2004

MICROSPORIDIA OF THE GENUS PARAHELLOHANIA
(MICROSPORA: AMBLYOSPORIDAE)
FROM BLOOD-SUCKING MOSQUITOES OF THE GENUS ANOPELES
(DIPTERA: CULICIDAE) FROM THE SOUTH OF THE WEST SIBERIA

A. V. Simakova, T. F. Pankova

Key words: Microsporidia, genus *Parathelohania* ultrastructure, spore, blood-sucking mosquitoes.

SUMMARY

Five new microsporidian species of the genus *Parathelohania* have been found in the fat body of blood-sucking mosquitoes collected in various water basins in the South of West Siberia: *Parathelohania divulgata* sp. n., *P. formosa* sp. n., *P. sibirika* sp. n., *P. teguldeti* sp. n., and *P. tomski* sp. n. Processes of merogony, sporogony, and ultrastructure of spores were investigated by means light and electronic microscopy.
